

## 【総説】

## 第四回 高安賞優秀賞受賞論文

論文 「Inhibitory role of CD19 in the progression of experimental autoimmune encephalomyelitis by regulating cytokine response」  
The American Journal of Pathology  
Vol. 168, No.3, Page 812-821 2006年3月掲載

## 自己免疫性脳脊髄炎の発症においてCD19は抑制的な役割を果たす

松下 貴史 (まつした たかし)

## 研究の背景

これまでB細胞に比べてT細胞の研究が飛躍的に進歩したため、自己免疫性疾患においてはT細胞による免疫反応・サイトカイン産生の異常に関心が集まっていた。しかしながら抗CD4抗体や抗ICAM-1抗体を始めとするT細胞を標的とした治療の多くは、期待されたほどの効果はなかった。そこに近年、B細胞は自己抗体産生細胞としてだけでなく、その抗原提示能やB細胞由来のサイトカイン産生、T-B細胞相互作用を介して自己免疫性疾患の病態形成に強く関与していることが明らかにされた<sup>1)</sup>。さらに全身性エリテマトーデスや関節リウマチなどの自己免疫性疾患で抗CD20抗体などのB細胞を標的とした治療の有効性が相次いで報告され、成因・治療におけるB細胞の重要性が示された。

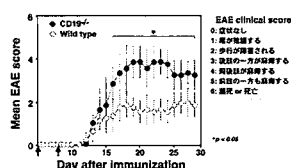
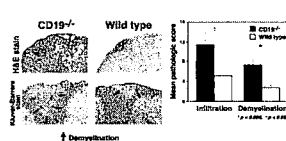
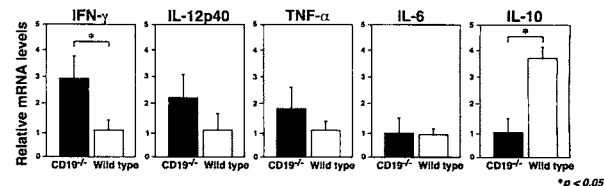
自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE) は多発性硬化症のマウスモデルであるとともに代表的なTh1自己免疫性疾患モデルである。脳脊髄由来の蛋白質で感作することにより自己反応性Th1細胞を誘導しサイトカインネットワークを介して脳脊髄に炎症・脱髄を惹起させる。IFN- $\gamma$ などのTh1サイトカインはEAEに対し促進的に働き、IL-10などのTh2サイトカインは抑制的に働く<sup>2)</sup>。EAEでもこれまでT細胞の役割が主に研究されてきたが、近年B細胞の関与も示唆されている。B細胞欠損マウスではEAEの悪化が見られ、B細胞はEAEに対し抑制的に働くとの報告<sup>3)</sup>や、反対に、B細胞の異常活性化がみられるLyn欠損マウスにおいてEAEの増悪が見られることよりB細胞はEAEに対し促進的に働くとの報告<sup>4)</sup>もあ

り一定した見解がない。

CD19はB細胞に発現する免疫グロブリンスーパーファミリーに属する95kDaの糖蛋白で、B細胞特異的なシグナル伝達分子である。CD19はB細胞の活性化閾値を下げ、活性化シグナルを増強する。CD19欠損 (CD19<sup>-/-</sup>) マウス由来B細胞はさまざまな刺激に対する反応性が著しく低下しており、その結果増殖能および免疫グロブリンの産生の低下が見られる。このCD19<sup>-/-</sup>マウスを用いてEAEにおけるB細胞、特にCD19の役割について解析した。

## 結果

CD19<sup>-/-</sup>マウス (C57BL/6) と野生型マウス (C57BL/6) に myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) 由来の MOG<sub>35-55</sub> ペプチドをアジュバントとともに免疫しEAEを誘導した。CD19<sup>-/-</sup>マウスでは野生型マウスと比較してEAEの重症化がみられた (図1)。また第28病日のEAEマウス脳脊髄の組織学的検討においてもCD19<sup>-/-</sup>マウスでは細胞浸潤 (HE染色にて評価)、脱髄 (クリューバー・バレラ染色にて評価) の程度が高度であった (図2)。EAE発症マウス脳脊髄からmRNAを抽出してreal-time RT-PCRにてサイトカインmRNAの定量をしたところ、CD19<sup>-/-</sup>マウスでは野生型マウスと比較しTh1サイトカイン (IFN- $\gamma$ , IL-12p40) の上昇およびTh2サイトカイン (IL-10) の低下が認められ、Th1偏倚が観察された (図3)。Th1サイトカインはEAEにおいて促進的に働くことより、この結果は臨床症状と相関するものであった。次にEAEにおける液性免疫を解析するため

図1: CD19<sup>-/-</sup>マウスではEAEが重症化する図2: CD19<sup>-/-</sup>マウスでは細胞浸潤・脱髄所見が高度である図3: CD19<sup>-/-</sup>マウス脳脊髄ではサイトカインmRNAがTh1へ偏倚している

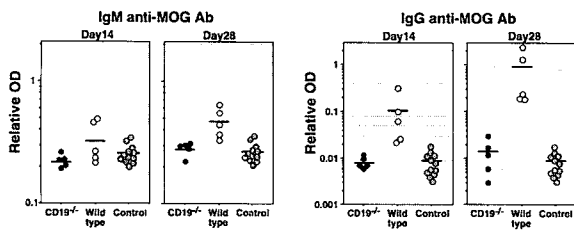


図4：CD19<sup>-/-</sup>マウスでは抗MOG抗体が産生されない

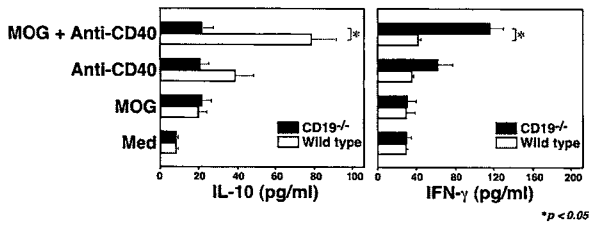


図5：CD19<sup>-/-</sup>B細胞ではIL-10の産生低下、IFN- $\gamma$ の産生亢進を認める

EAE発症マウス血清を用いてELISAで抗MOG抗体を測定した。野生型マウスでは抗MOG抗体が検出されたが、重症のEAEを発症したCD19<sup>-/-</sup>マウスでは検出されず、抗MOG抗体はEAEの重症度とは相関しなかった(図4)。CD19<sup>-/-</sup>マウスでは抗MOG抗体が産生されないためEAEが増悪した可能性を考え、抗MOG抗体を有するEAE第28病日の野生型マウスの血清をCD19<sup>-/-</sup>マウスに投与したがEAEの症状を改善させる効果は認められなかった。よってCD19<sup>-/-</sup>マウスのEAEの増悪には抗体産生以外の機序によるB細胞の関与が推測された。B細胞由来のIL-10が、EAEの抑制に重要であることが報告されており<sup>3)</sup>、B細胞由来のサイトカインを解析した。EAE発症マウス脾臓よりB細胞を分離・精製しMOGおよびanti-CD40にて刺激培養したところ野生型マウス由来B細胞ではIL-10産生を認めたが、CD19<sup>-/-</sup>マウス由来B細胞ではIL-10産生をほとんど認めなかった(図5左)。CD19<sup>-/-</sup>マウスではB細胞由来のIL-10の欠如によりEAEが重症化したとの仮定で、IL-10を産生する野生型マウス由来B細胞をCD19<sup>-/-</sup>マウスに静注した後にEAEを誘導したが軽症化は認めなかった(図6左)。同様にB細胞のIFN- $\gamma$ 産生を解析すると、野生型マウス由来B細胞ではIFN- $\gamma$ 産生をほとんど認めなかったが、CD19<sup>-/-</sup>マウス由来B細胞ではIFN- $\gamma$ 産生を認めた(図5右)。さらにIFN- $\gamma$ を産生するCD19<sup>-/-</sup>マウス由来B細胞を野生型マウスに静注した後にEAEを誘導したところ、通常の野生型マウスより重症化し、CD19<sup>-/-</sup>マウスと同程度の重症度となった(図6右)。このようにCD19<sup>-/-</sup>マウス由来B細胞はIFN- $\gamma$ の産生増強を介して、Th1へより強く偏倚させ、その結果CD19<sup>-/-</sup>マウスではEAEが重症化したものと考えられた。

#### まとめ

B細胞は抗原提示能、サイトカイン産生を介してTh1/Th2バランスを制御することによりEAEの発症に重要な役割を演じている可能性が示唆された。抗MOG抗体がEAEに対し促進的に作用するとの報告もあるが<sup>5)</sup>、我々の検討では抗MOG抗体よりもサイトカイン産生や抗原提示能などのB細胞機能がより

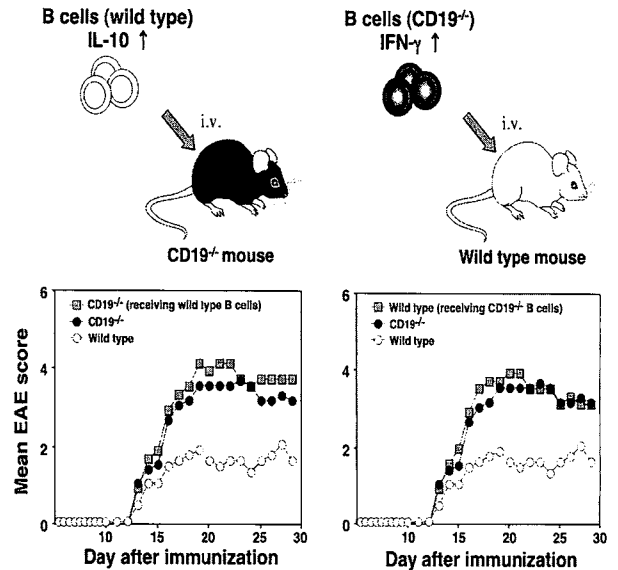


図6：(左図) IL-10を産生する野生型B細胞をCD19<sup>-/-</sup>マウスに移入してもEAEの抑制効果は認めない。(右図) IFN- $\gamma$ 産生亢進がみられるCD19<sup>-/-</sup>B細胞を野生型マウスに移入するとEAEの症状が増悪する

重要であると考えられた。特にCD19<sup>-/-</sup>マウス由来B細胞はIFN- $\gamma$ の産生亢進を介して、Th1へより強くシフトさせ、その結果EAEが重症化したものと推測された。以上よりCD19の発現を介してB細胞はEAEに対し抑制的に機能することが示され、B細胞由来のIFN- $\gamma$ が自己免疫性疾患を制御していることを明らかにした。

#### 文 献

- 1) Lipsky PE: Systemic lupus erythematosus: an autoimmune disease of B cell hyperactivity, *Nat Immunol* 2001, 2: 764-766
- 2) Hafler DA: Multiple sclerosis, *J Clin Invest* 2004, 113: 788-794
- 3) Fillatreau S, Sweeney CH, McGeachy MJ, Gray D, Anderton SM: B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10, *Nat Immunol* 2002, 3: 944-950
- 4) Du C, Sriram S: Increased severity of experimental allergic encephalomyelitis in lyn-/- mice in the absence of elevated proinflammatory cytokine response in the central nervous system, *J Immunol* 2002, 168: 3105-3112
- 5) Linington C, Bradl M, Lassmann H, Brunner C, Vass K: Augmentation of demyelination in rat acute allergic encephalomyelitis by circulating mouse monoclonal antibodies directed against a myelin/oligodendrocyte glycoprotein, *Am J Pathol* 1988, 130: 443-454

#### Profile



所属：金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学  
 1999年3月 金沢大学医学部医学科卒業  
 2006年3月 金沢大学大学院医学系研究科  
 (皮膚科学) 修了  
 趣味：水泳、スキー